

Estudo da Estabilidade de Antocianinas em Diferentes Alcoóis Alifáticos para Uso como Indicador de pH

Study of Stability of Anthocyanins in Different Aliphatic Alcohols for Use as an Indicator of pH

Julia Marcondes Borges

Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC, Crisciúma, SC
corporationjulia@hotmail.com

Monique Domingos dos Santos

Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC, Crisciúma, SC
moniquedomingos@hotmail.com

Fabício Pereira Leandro

Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC, Crisciúma, SC
fabriciop.leandro@hotmail.com

Ana Luiza de Sousa Toledo

Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC, Crisciúma, SC
anatoled@hotmail.com

Ana Paula Figueiredo

Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC, Crisciúma, SC
ana.figueiredo@ifsc.edu.br

Lucas Domingui

Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC, Crisciúma, SC
lucas.domingui@ifsc.edu.br

Resumo: No presente trabalho foram extraídas antocianinas de materiais naturais a fim de produzir indicadores de pH alternativos para o Ensino Médio. A estabilidade química das antocianinas foi analisada, em função do tempo, para soluções de ameixa roxa, beterraba, casca de uva, jabuticaba e pétalas de rosas vermelhas em metanol, etanol e propanol. Os resultados demonstram que as antocianinas oriundas de ameixa

Recebido em 30/04/2014 - Aceito em 30/07/2014.

RECEN	16(1)	p. 129-142	jan/jun	2014	DOI: 10.5935/RECEN.2014.01.08
-------	-------	------------	---------	------	-------------------------------

roxa, beterraba e jabuticaba apresentaram intensidade de coloração satisfatória para uso como indicadores naturais de pH. Porém, os ensaios mostraram que a antocianina extraída da beterraba apresentam menor estabilidade química, independente do álcool em que se encontra. Por sua vez, as antocianinas derivadas de ameixa roxa e jabuticaba apresentaram melhores resultados em termos de estabilidade em metanol e propanol. A antocianina obtida a partir da beterraba, mesmo sendo mais instável, apresentou bom comportamento como indicador de pH.

Palavras-chave: alcoóis alifáticos; antocianinas; estabilidade química; indicador natural de pH.

Abstract: In the present work anthocyanins were extracted from natural materials to produce indicators of alternative pH for High School. The chemical stability of anthocyanins was analyzed, taking into account the time, for solutions of plum purple, beet, grape skin, jabuticaba fruit and red rose petals in methanol, ethanol and propanol. The results demonstrate that anthocyanins derived from purple plum, beet, jabuticaba fruit had satisfactory staining intensity for use as natural pH indicators. However, tests have shown that anthocyanins extracted from beet and jabuticaba fruit has lower chemical stability, irrespective of the content of alcohol found. In turn, anthocyanins derived from purple plum and jabuticaba fruit showed better results in terms of stability in methanol and propanol. Anthocyanin obtained from sugar beet, although they were more unstable, showed good behavior as a pH indicator.

Key words: anthocyanins; aliphatic alcohols; chemical stability; natural pH indicator.

1 Introdução

Atualmente, as deficitárias estruturas públicas escolares impedem que os professores tenham acesso a materiais, reagentes e equipamentos que oportunizam maior consolidação e interação prática-teoria [1]. Muitas vezes, o uso de atividades experimentais fica a cargo apenas da boa vontade do professor e de sua capacidade de buscar

alternativas para superação desse problema.

Por outro lado, nas instituições de ensino em que há estrutura física disponível para realização de atividades experimentais de química geral ou até mesmo analítica, a preocupação passa a ser o uso de algumas substâncias químicas como indicadores de pH que impede, após uso dos participantes, que a mesma seja descartada sem tratamento, desde que os reagentes ácidos e básicos não apresentem toxicidade.

Portanto, uma das formas de superação desse problema é a utilização de recursos de fácil aquisição, baixo custo e biodegradáveis como indicadores ácido-base naturais. Indicadores ácido-base naturais são uma alternativa a isto [2]. Os indicadores ácido-base ou indicadores de pH são substâncias orgânicas fracamente ácidas (indicadores ácidos) ou fracamente básicas (indicadores básicos) que apresentam cores diferentes para suas formas protonadas e desprotonadas. Isso significa que estas mudam de cor em função do pH. São comumente classificados em função dos mecanismos de modificação de suas cores, ou seja, por titulação de neutralização que podem ser aplicados como indicadores [3].

Segundo Terci e Rossi [2], os primeiros indicadores foram obtidos quando Robert Boyle, no século XVII, percebeu que a coloração violeta do licor produzida por ele modificava-se para verde, em solução básica, e para vermelho, em solução ácida.

Algumas plantas, flores e frutos são capazes de apresentar diferentes cores em meios ácidos ou básicos devido à presença de algumas substâncias químicas em sua composição natural. O grupo de substâncias naturais presente nelas e que apresenta essas características são denominadas antocianinas [4].

Antocianinas (do grego *anthos*, flor, *kyanos*, azul escuro) é o maior e mais importante grupo de pigmentos naturais solúveis em água [5]. As antocianinas são quimicamente compostos fenólicos, pertencentes à família dos flavonóides, responsáveis pelas cores das pétalas de flores e de frutos de uma grande variedade de plantas [6]. Também se atribui às antocianinas as cores dos produtos que são feitos a partir de vegetais e frutos coloridos, como o vinho [7].

A figura 1 representa o cátion flavílio, base para formação da estrutura de uma antocianina. O cátion flavílio, por si só, não é uma antocianina, pois precisa possuir substituições nos anéis aromáticos, nas posições representadas por R[8].

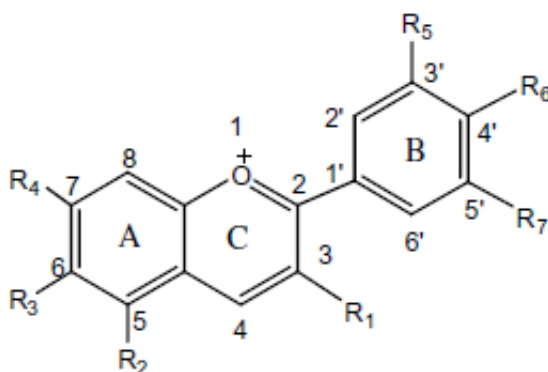


Figura 1. Estrutura do cátion flavílio [9].

A tabela 1 apresenta os grupos substituintes R de algumas antocianinas e suas respectivas colorações, que variam do vermelho ao azul [10]. A variedade de cores, muitas vezes, é resultado da mistura de duas ou mais antocianinas.

Tabela 1. Grupos substituintes em algumas antocianinas

Antocianina	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	Coloração
Cianidina	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Vermelho-Laranja
Peonidina	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Vermelho-Laranja
Delfinidina	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Azul-Vermelho
Malvinidina	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Azul-Vermelho
Rosinidina	OH	OH	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	Vermelho
Tricetinidina	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Vermelho
Petunidina	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Azul-Vermelho

Fonte: Castañeda-Ovando et al. [9].

Sua variedade de cores vai do vermelho ao azul. Muitas vezes sua coloração é resultante da mistura de duas ou mais antocianinas [10]. Esta estrutura apresenta todas as características de um indicador devido ao caráter fracamente básica e que possui uma versão protonada.

As antocianinas são altamente solúveis em água. Elas também tem a possibilidade de ressonância de cargas em sua estrutura. A figura 2 apresenta o comportamento de uma antocianina qualquer em pH ácido ou básico, ou seja, na presença de íons H⁺ e OH⁻.

Por outro lado, a incorreta preparação de indicadores ou não conservação de

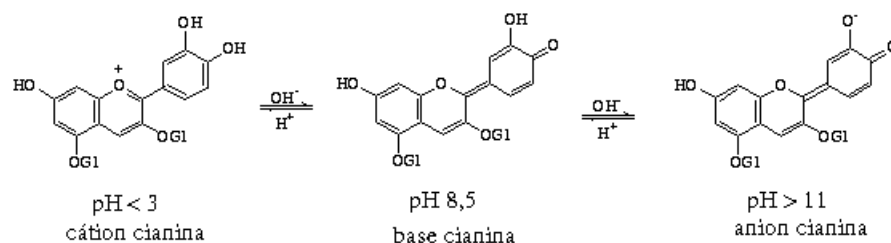


Figura 2. Estruturas de ressonância para uma antocianina [9].

forma adequada inviabiliza sua utilização horas após sua preparação, uma vez que são substâncias de fácil degradação bioquímica. Uma das formas de retardar e minimizar essa degradação é a solubilização dessas amostras em alcoóis, que atuam como agentes esterilizantes [11]. Isso o conservaria durante determinado período para que possa ser utilizado como indicador natural e, por outro lado, após utilização teria sua biodegradação facilitada.

Neste contexto, as antocianinas apresentam todas as características de um indicador, pois são substâncias orgânicas fracamente básicas e que possuem uma versão protonada. É importante mencionar que a incorreta preparação ou conservação inviabiliza sua utilização. Assim, estudou-se a estabilidade de antocianinas em função do tempo, solubilizados em alcoóis alifáticos, extraídos de frutos ou tubérculos de fácil aquisição, para distribuição e utilização como indicador de pH em experimentos em sala de aula.

Diante do exposto, no presente trabalho foram realizados estudos de estabilidade em metanol, etanol e propanol. A escolha desses alcoóis se deve a sua alta solubilidade em água. Alcoóis de maiores cadeias carbônicas tem sua solubilidade diminuída em água, devido ao aumento da cadeia hidrofóbica. Considerando, ainda, que algumas escolas tem disponibilidade apenas do álcool comercial como solvente, a estabilidade das antocianinas foi estudada em misturas de alcoóis e água.

2 Metodologia

Para o estudo da estabilidade química das antocianinas em diferentes alcoóis, foram preparados extratos de cinco diferentes materiais: ameixa roxa, beterraba, casca

de uva, jabuticaba e pétalas de rosas vermelhas. A extração das antocianinas ocorreu pelo aquecimento de 40 g de cada um dos materiais, em 200 mL de água destilada, em ebulição, por 20 minutos. Na sequência, os extratos foram resfriados e filtrados.

Para o preparo das soluções alcoólicas, foram pipetados 10 mL do extrato previamente do filtrado e dissolvidos em 20 mL de metanol (Vetec), etanol (Synth) e n-propanol (Vetec), com graus de pureza acima de 99,5%.

As misturas foram armazenadas em frasco âmbar, sob refrigeração. A estabilidade dos indicadores naturais foi acompanhada pelo comportamento da coloração da solução em função do tempo. Os dados foram coletados em UV-Vis (Spectro, SP-22), na faixa de comprimento de onda entre 360 e 700 nm, em intervalos de tempo de sete dias, por cinco semanas.

3 Resultados e discussão

Em um primeiro momento, observou-se o comportamento das antocianinas em diferentes alcoóis. Percebeu-se que a intensidade da coloração é diretamente proporcional ao tamanho da cadeia carbônica do álcool. As figuras 3 a 7 demonstram o comportamento das antocianinas extraídas de ameixa roxa, beterraba, casca de uva, jabuticaba e pétalas de rosas vermelhas, respectivamente, após 24 h do procedimento.

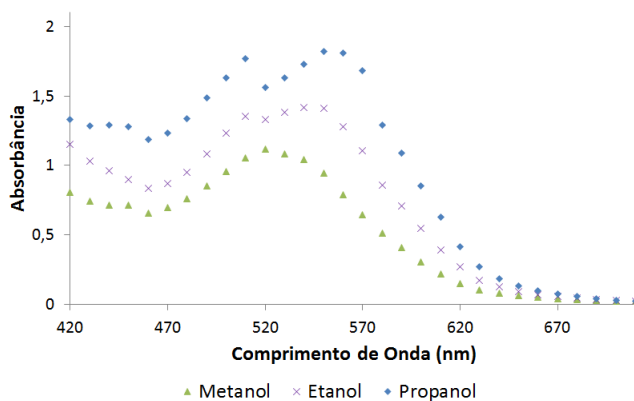


Figura 3. Comportamento das antocianinas extraídas de ameixa roxa, em diferentes alcoóis.

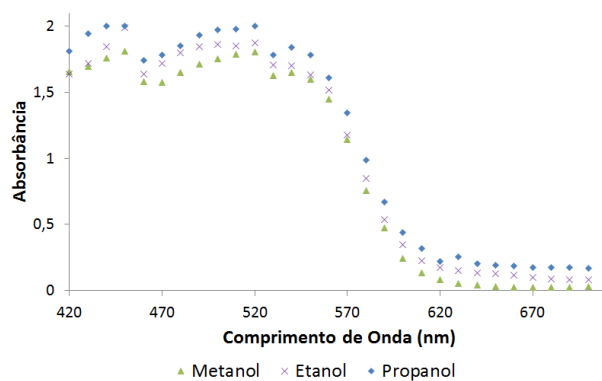


Figura 4. Comportamento das antocianinas extraídas de beterraba, em diferentes alcoóis.

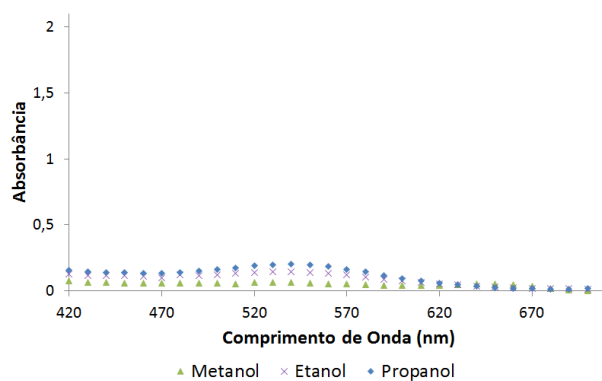


Figura 5. Comportamento das antocianinas extraídas de cascas de uva, em diferentes alcoóis.

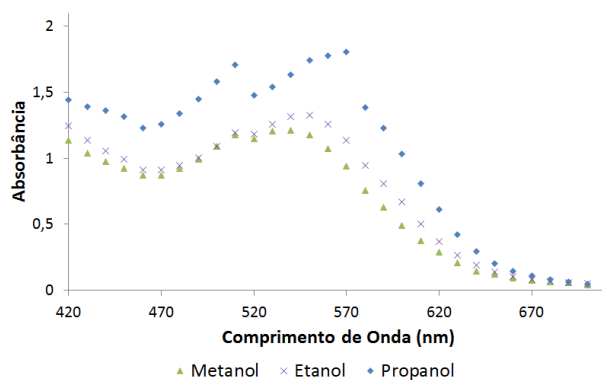


Figura 6. Comportamento das antocianinas extraídas de jabuticaba, em diferentes alcoóis.

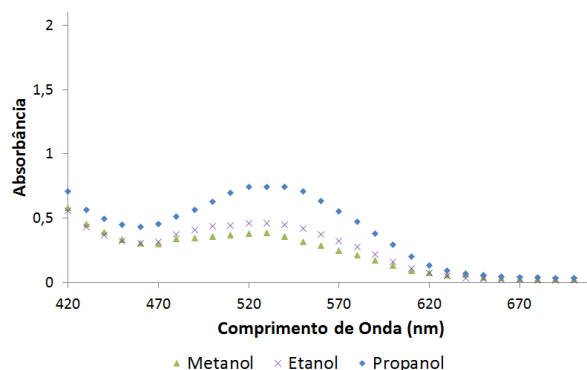


Figura 7. Comportamento das antocianinas extraídas de pétalas de rosa, em diferentes alcoóis.

Em todos os casos, percebeu-se que a intensidade da coloração é diretamente proporcional ao tamanho da cadeia carbônica do álcool. Em alguns casos, tal aumento ocorreu de forma mais acentuada, porém os resultados são similares em todas as amostras. Observou-se, também, que os extratos obtidos a partir de pétalas de rosa e casca de uvas foram os que apresentaram menor intensidade em sua coloração. Para as antocianinas extraídas de casca de uva e de pétalas de rosas, as baixas intensidades de coloração dificultam sua utilização como indicadores de pH naturais, uma vez que a mudança de pH depende da percepção visual, sendo excluídas da função de indicador e, também, da etapa experimental desse trabalho.

As figuras 8, 9 e 10 apresentam os resultados da estabilidade química das soluções de ameixa roxa em metanol, etanol e propanol, respectivamente.

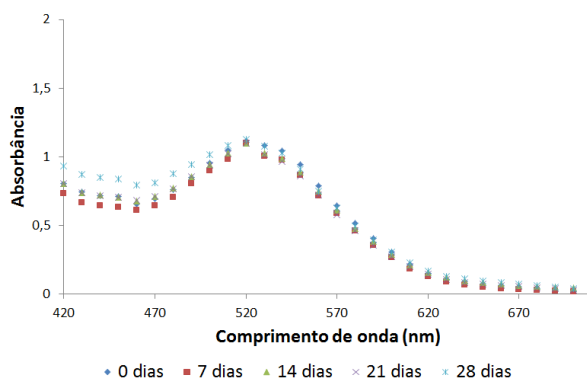


Figura 8. Comportamento das antocianinas extraídas de ameixa roxa, estabilizada em metanol.

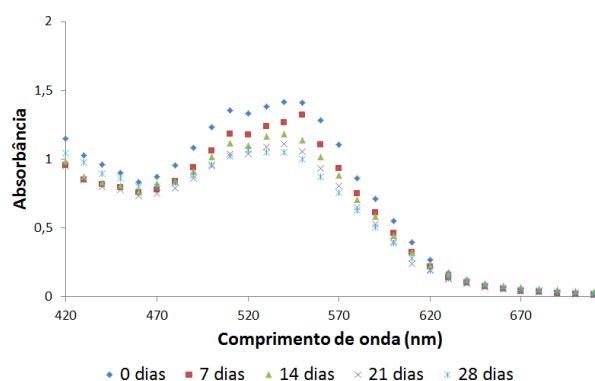


Figura 9. Comportamento das antocianinas extraídas de ameixa roxa, estabilizada em etanol.

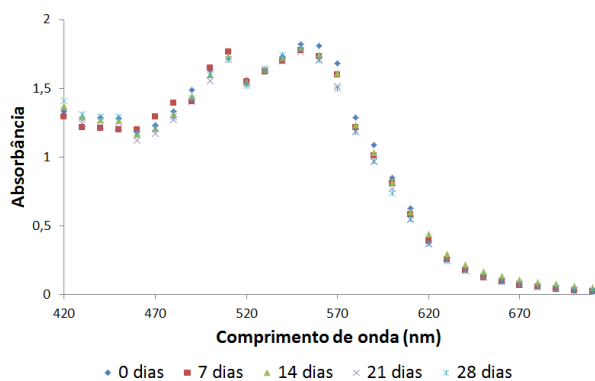


Figura 10. Comportamento das antocianinas extraídas de ameixa roxa, estabilizada em propanol.

Percebe-se elevada estabilidade, em função do tempo, para a solução de ameixa roxa em metanol e propanol, uma vez que não alterações significativas nas respectivas absorvâncias. Porém em etanol, observou-se um decaimento na intensidade da coloração, indicando pouca estabilidade das antocianinas nesse solvente. Mesmo assim, o isolamento dessa antocianina e sua utilização como indicador de pH em aulas experimentais é possível, com grande estabilidade para metanol e propanol, em um período de, pelo menos, 30 dias. As figuras 11, 12 e 13 apresentam os resultados obtidos para a antocianina extraída da beterraba.

Os resultados evidenciaram maior estabilidade dessas antocianinas, em função do tempo, em todos os alcoóis utilizados. Mesmo assim, na sequência do trabalho, demonstra-se que é possível utilizar esse extrato como indicador natural, mesmo com

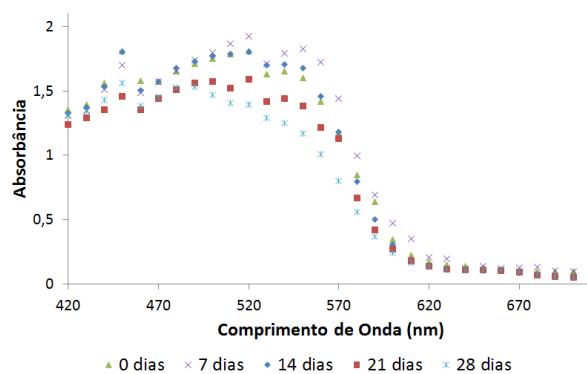


Figura 11. Comportamento das antocianinas extraídas de beterraba, estabilizada em metanol.

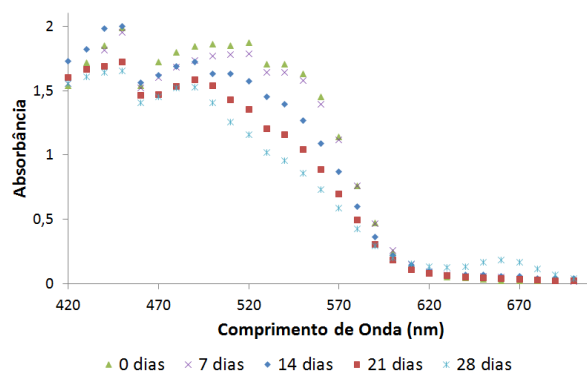


Figura 12. Comportamento das antocianinas extraídas de beterraba, estabilizada em etanol.

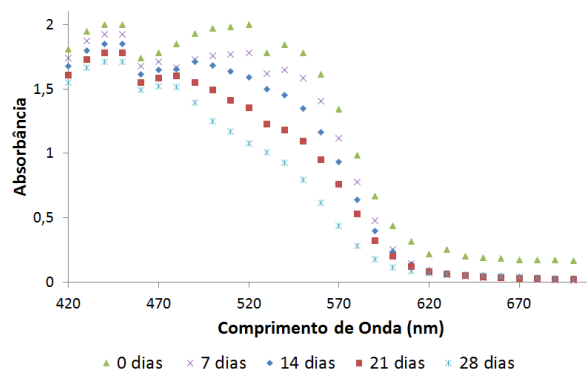


Figura 13. Comportamento das antocianinas extraídas de beterraba, estabilizada em propanol.

a instabilidade apresentada, após 28 dias. Os resultados do comportamento das antocianinas de jabuticaba, em função do tempo, são apresentados nas figuras 14, 15 e 16.

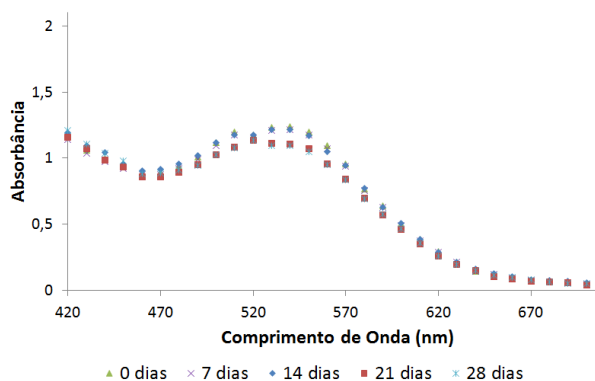


Figura 14. Comportamento das antocianinas extraídas de jabuticaba, estabilizada em metanol.

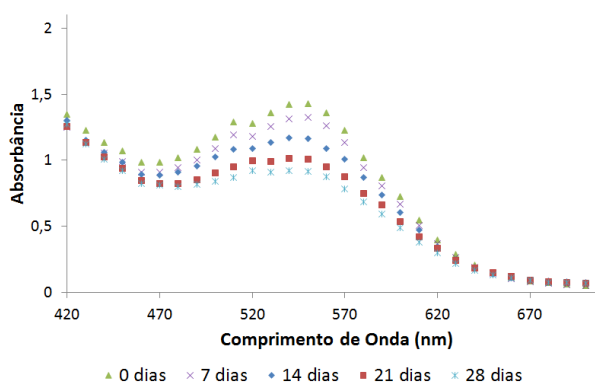


Figura 15. Comportamento das antocianinas extraídas de jabuticaba, estabilizada em etanol.

Novamente percebeu-se uma baixa estabilidade para as antocianinas conservadas em etanol, enquanto as conservadas em metanol e propanol apresentaram uma boa estabilidade para um período de 28 dias.

De forma geral, apesar do metanol e propanol propiciarem melhores resultados como indicadores naturais, não se descartou o uso do extrato etanólico devido aos efeitos satisfatórios comprovados no processo de titulação. Desse modo, demonstrou-se que é possível a produção de indicadores naturais para uso em aula experimentais.

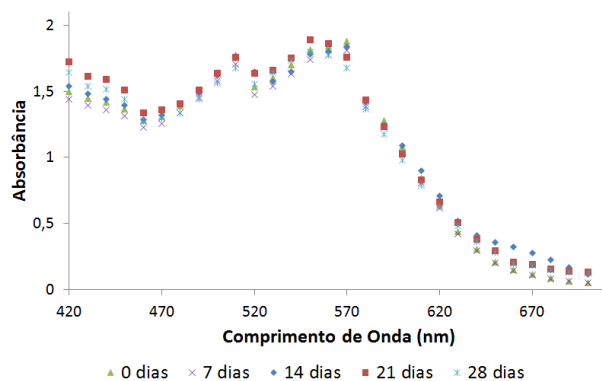


Figura 16. Comportamento das antocianinas extraídas de jabuticaba, estabilizada em propanol.

A fim de se comprovar esse resultado, procedeu-se uma titulação ácido-base. Titulou-se 25 mL de HCl, 0,1 mol/L, com NaOH, 0,1 mol/L, utilizando o indicador de beterraba, solubilizado em etanol, após 28 dias. A figura 17 demonstra o resultado.



Figura 17. Comportamento do indicador ácido-base extraído da beterraba, antes e após a viragem, durante uma titulação.

Uma diferença de 0,5 mL foi suficiente para provocar a mudança de coloração, durante a titulação. Dessa forma, a extração de antocianinas e a produção de indicadores ácido-base para uso em escolas públicas é possível. Essas estruturas são bem conservadas em alcoóis, podendo ser utilizados em um bom intervalo de tempo após produção.

4 Conclusões

Os resultados mostraram, inicialmente, que a intensidade de coloração das antocianinas depende diretamente do tamanho da cadeia carbônica alifática do álcool utilizado. Quando maior for a cadeia carbônica, maior é a intensidade da coloração. Porém, as antocianinas extraídas de pétalas de rosa e cascas de uva apresentaram baixa intensidade, o que dificulta o seu uso como indicador natural de pH, pois tal mudança requer a percepção visual.

As antocianinas, extraídas de ameixa roxa, beterraba e jabuticaba apresentaram intensidades de coloração superiores, o que auxilia no seu uso como indicador natural de pH. Observando o seu comportamento, em termos de estabilidade em função do tempo, percebeu-se que os melhores resultados são obtidos para metanol e propanol, tanto na jabuticaba quanto na ameixa roxa. A antocianina extraída da beterraba, por sua vez, apresentou decaimento da absorbância em todos os alcoóis em que foi estabilizada. Mesmo assim, ela pode ser utilizada como indicador natural de pH, como demonstrado no experimento.

Assim, nesse trabalho, comprova-se que é possível a preparação de indicadores naturais para uso em atividades experimentais de química geral e analítica. Trata-se de mais uma alternativa de material para as escolas com infraestrutura deficitária ou para substituição dos indicadores comerciais não biodegradáveis nas instituições mais equipadas.

5 Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa e a Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), pelo financiamento, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsas pelo Programa PIBIC-EM.

Referências

- [1] BEREZUK, P. A.; INADA, P. Avaliação dos laboratórios de ciências e biologia das escolas públicas e particulares de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Human and Social Sciences*, v. 32, n. 2, p. 207-215, 2010.

- [2] TERCI, D. B. L., ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? Química Nova, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.
- [3] SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G., ANTUNES, P. A. Extração e emprego como indicadores de pH. Química Nova, v. 17, n. 2, p. 27-32, 2001.
- [4] MARQUES, J. A. BIAZOTO, K., BIASI, L. H., DOMINGUINI, L. Estudo do comportamento de antocianinas como indicadores naturais. Revista Técnico-Científica do IFSC, v. 3, n. 1, p. 42-45, 2011.
- [5] CAVALCANTI, R. N., SANTOS, D. T., MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems - An overview. Food Research International, v. 44, n. 2, p. 499-509, 2011.
- [6] BLEVE, M. et al. An innovative method for the purification of anthocyanins from grape skin extracts by using liquid and sub-critical carbon dioxide. Separation and Purification Technology, v. 64, p. 192-197, 2008.
- [7] MAZZA, G. Anthocyanins in grapes and grape products. Food Science and Nutrition, v. 35, p. 341-371, 1995.
- [8] VOLP, A. C. P., RENHE, I. R. T., BARRA, K., STRINGUETA, P. C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. Revista Brasileira de Nutrição Clínica, v. 23, n. 2, p. 141-, 2008.
- [9] CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry, v. 113, n. 4, p. 859-871, 2009.
- [10] DEGÁSPARI, C. H., WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. Visão Acadêmica, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.
- [11] SEABRA, I. J. et al. Effect of solvent (CO₂/ethanol/H₂O) on the fractionated enhanced solvent extraction of anthocyanins from elderberry pomace. Journal of Supercritical Fluid, v. 54, n. 2, p. 145-152, 2010.